

Penentuan Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Karas (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) terhadap Bakteri *Bacillus cereus* secara *In Vitro*

In Vitro Antibacterial Activity Determination of Karas Leaves Infusion (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) Against *Bacillus cereus* Bacteria

Astried Miadhora Simanjuntak^{1*}, Pratiwi Apridamayanti¹, Eka Kartika Untari¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

*E-mail: astridmiads@gmail.com

Diterima: (kosongkan)

Direvisi: (kosongkan)

Disetujui: (kosongkan)

Abstrak

Bakteri *Bacillus cereus* merupakan bakteri patogen yang banyak terdapat pada saluran pencernaan. Indonesia yang kaya akan keanekaragaman hayati, menjadi potensi besar bagi pengembangan tanaman, termasuk tanaman antimikroba. Salah satunya adalah Daun Karas (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan memperoleh KHM dari infusa daun karas. Daun karas diekstraksi menggunakan metode infusa. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer terhadap bakteri *Bacillus cereus*. Konsentrasi infusa yang digunakan 204,8; 102,4; 51,2; 25,6; 12,8; 6,4 mg/ml. Aqua pro injeksi sebagai kontrol negatif. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa simplisia daun karas mengandung fenol, flavonoid, tanin, saponin. Infusa daun karas mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* secara *in vitro* dengan nilai KHM 12,8 mg/ml dan diameter zona hambat 6,53 mm. Dapat disimpulkan bahwa infusa daun karas mengandung senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, khususnya bakteri *Bacillus cereus*.

Kata kunci : Infusa daun karas; *Aquilaria malaccensis* Lamk.; Antibakteri, *Bacillus cereus*, Kirby Bauer

Abstract

Bacillus cereus is a pathogenic bacteria that are found in the skin and digestive tract. Indonesia is rich in biodiversity, a great potential for plant development, including antimicrobial plants. One of them is karas leaves infusion (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). This study aims to determine the antibacterial activity and find out MIC from karas leaves infusion. Karas leaves is extracted using infusion method. Antibacterial activity was performed using the Kirby-Bauer disc diffusion method against *Bacillus cereus* bacteria. Infusion concentration that was used consisted of 204,8; 102,4; 51,2; 25,6; 12,8; 6,4 mg/ml. Aqua pro injection as negative control. The results of phytochemical screening indicated that karas leaves simplicia contained phenols, flavonoids, tannins, saponins. Karas leaves infusion have antibacterial activity against *Bacillus cereus* *in vitro* as indicated by inhibition zone at a certain concentration and MIC value of 12,8 mg/ml with inhibitory zone diameter of 6,53 mm. It was concluded that the karas leaves infusion contained active compounds which were potential to be developed antimicrobial agent especially *Bacillus cereus* bacteria.

Keywords: Karas leaves infusion, *Aquilaria malaccensis* Lamk., Antibacterial, *Bacillus cereus*, Kirby Bauer

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyebab utama tingginya angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*) di negara-negara berkembang.⁽¹⁾ Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya penyakit infeksi yaitu *Bacillus cereus*.⁽²⁾ Bakteri *Bacillus cereus* merupakan bakteri penyebab diare yang terdapat pada usus dan menyebabkan gastroenteritis dengan membentuk kompleks enterotoksin.^(3,4)

Karas merupakan salah satu hasil hutan non kayu yang memiliki nilai ekonomi tinggi sehingga banyak dikembangkan di Indonesia. Salah satu jenis tanaman ini adalah spesies *Aquilaria malaccensis* Lamk. yang sebelumnya hanya dimanfaatkan pada bagian batangnya, namun daun dari tanaman karas masih belum banyak digunakan dan terbuang begitu saja. Karas secara empiris telah digunakan sebagai obat antara lain penghilang stress, gangguan ginjal, hepatitis, sirosis, pembengkakan hati dan ginjal, bahan antibiotik untuk TBC, reumatik, kanker, malaria dan tukak lambung.⁽⁵⁾

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini dilakukan untuk melihat potensi aktivitas antibakteri infusa daun karas (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) terhadap bakteri *Bacillus cereus* secara *in vitro* sebagai bahan alternatif untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Pemilihan penyarian dengan metode infusa atau air rebusan disesuaikan dengan penggunaan pada masyarakat, sehingga penelitian ini dapat menjadi pembuktian dari penggunaan secara empiris pada masyarakat selama ini.

METODE

Uji aktivitas antibakteri dihitung menggunakan metode difusi cakram dengan bakteri uji *Bacillus cereus*.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah autoklaf (HL 36Ae), *beaker glass* 50 ml dan 100 ml (Iwaki Pyrex), blender (Toshiba), cawan petri (Iwaki Pyrex), *chamber*, corong kaca (Iwaki Pyrex), erlenmeyer 25 ml dan 50 ml (Iwaki Pyrex), gelas ukur 50 ml dan 10 ml (Iwaki Pyrex), *hot plate* (SI Analytics GmbH D-55122), inkubator (Memmert E24899), jangka sorong (Tricle Brand 150MMX0.05/6"X1/128"),

jarum ose, kertas saring, krusible porselen, labu ukur 10 ml dan 25 ml (Iwaki Pyrex), Laminar Air Flow (LAF) Cabinet, lemari pendingin (SHARP), mikropipet (Rainin E1019705K), *object glass*, oven (Memmert UP400), panci infus, pembakar bunsen, pH meter (Hanna), piknometer (Iwaki Pyrex), pinset, pipet tetes, pipet volume 10 ml dan 25 ml (Iwaki Pyrex), tabung reaksi (Iwaki Pyrex), termometer, timbangan analitik (Ohaus PA2102), *vial*.

Bahan yang digunakan dalam persiapan dan pengujian aktivitas antibakteri antara lain aqua pro injeksi, infusa daun karas (*Aquilaria malaccensis* Lamk.), kapas, kertas cakram (Whatman), kertas merang, larutan Mc. Farland, media Mueller Hinton Agar (Merck), natrium klorida (NaCl), plastik tahan panas (Wayang), Spiritus (Panter).

Prosedur Kerja

Pembuatan Media Agar

Media yang digunakan berupa media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Ditimbang sebanyak 38 g, dilarutkan dengan 1000 ml akuades steril, dan dipanaskan hingga mendidih. Larutan tersebut disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit⁽⁶⁾.

Pembuatan Kultur Kerja Bakteri

Biakan bakteri dari *Bacillus cereus* diambil dengan jarum ose steril lalu diinokulasi pada permukaan media MHA miring, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam menggunakan inkubator.

Pembuatan Inokulum Bakteri

Koloni *Bacillus cereus* dari kultur kerja diambil menggunakan jarum ose steril kemudian disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% steril lalu hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan larutan Mc. Farland merupakan standar kekeruhan⁽⁷⁾. Kekeruhan yang diperoleh kemudian disetarakan dengan larutan Mc. Farland 0,5 yaitu setara dengan jumlah pertumbuhan 1×10^8 sel bakteri/ml dan setelah setara maka suspensi ini digunakan sebagai bakteri uji⁽⁸⁾.

Pembuatan Infusa

Simplisia sebanyak 50 gram dimasukkan ke dalam panci infus, kemudian ditambahkan *aquadest* sebanyak 100 ml, dipanaskan selama 15 menit

dihitung setelah suhu mencapai 90°C. Setelah itu disaring menggunakan kain *flannel*, kekurangan volume ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas sampel diperoleh volume infusa sebanyak 100 ml. Tutup tabung dengan kapas dan *aluminium foil* yang sebelumnya telah disterilkan sampai infusa digunakan dalam penelitian.

Uji Aktivitas

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap infusa daun karas (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) dengan variasi konsentrasi. Metode yang digunakan adalah metode *Disc Diffusion*.⁽⁶⁴⁾ Suspensi bakteri uji diteteskan pada media petri MHA dan digores menggunakan *cotton-bud* steril, kemudian diputar beberapa kali. Cakram kertas disiapkan dan larutan kontrol negatif berupa aqua pro injeksi steril, dan berbagai konsentrasi infusa daun karas (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) Kemudian cakram ditempatkan diatas permukaan media. Media selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diamati zona hambat yang terbentuk dengan melihat zona bening di sekitar sumuran yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

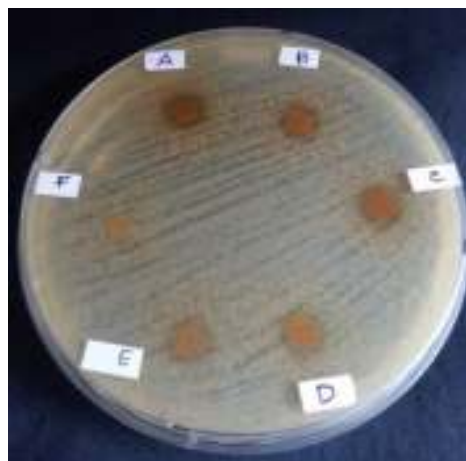
Uji Aktivitas

Pengujian yang dilakukan terhadap kontrol negatif yaitu Aqua pro injeksi memperoleh hasil tidak terbentuknya zona hambat, sehingga dapat dipastikan pelarut yang digunakan dalam pengujian penentuan KHM bebas dari kontaminasi.

Pengujian aktivitas antibakteri pada gambar 1 dan tabel 1 menunjukkan bahwa infusa daun karas dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada setiap konsentrasi yang diberikan.

Berdasarkan uji antibakteri yang dilakukan terhadap bakteri *Bacillus cereus*, infusa daun karas menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona hambat pada konsentrasi yang diberikan, yaitu pada konsentrasi 204,8 mg/ml, 102,4 mg/ml, 51,2 mg/ml, 25,6 mg/ml dan 12,8

mg/ml. Pada konsentrasi 6,4 mg/ml tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat pada sekitar cakram.



Gambar 1. Hasil Penentuan KHM Infusa Daun Karas terhadap Bakteri *Bacillus cereus*

Keterangan gambar:

A = 204,8 mg/ml	D = 25,6 mg/ml
B = 102,4 mg/ml	E = 12,8 mg/ml
C = 51,2 mg/ml	F = 6,4 mg/ml

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Infusa Daun Karas terhadap Bakteri *B.cereus*

	Sampel uji (mg/ml)	Diameter Zona Hambat Rata-rata*± SD
<i>Bacillus cereus</i>	204,8	11,48 ± 0,20207
	102,4	9,76 ± 0,30551
	51,2	8,12 ± 0,22546
	25,6	7,43 ± 0,15275
	12,8	6,53 ± 0,15275
	6,4	0

meru

pakan salah satu bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel bakteri yang terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal dan mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, asam teikoat berperan dalam pertumbuhan dan pembelahan sel.⁽⁶⁾ Pertumbuhan bakteri yang terhambat disebabkan oleh adanya interaksi senyawa aktif melalui pelekatan maupun difusi yang ditimbulkan dari senyawa antibakteri

terhadap bakteri, yang mengakibatkan berbagai macam gangguan pada bakteri.⁽⁷⁾ Golongan senyawa pada infusa daun karas (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) yang diduga memiliki kemampuan sebagai antibakteri adalah fenol, flavonoid, saponin, dan tanin.

Kontrol positif berfungsi sebagai kontrol pembandingan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk oleh zat uji. Sedangkan kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif yang digunakan adalah Aqua pro injeksi. Hasil dari penelitian ini menunjukkan tidak terbentuknya zona hambat yang menandakan tidak adanya aktivitas antibakteri. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya bahwa Aqua pro injeksi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri.⁽⁸⁾

KESIMPULAN

Adapun kesimpulan dari penelitian ini adalah Infusa daun karas (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dengan konsentrasi 204,8 mg/ml.

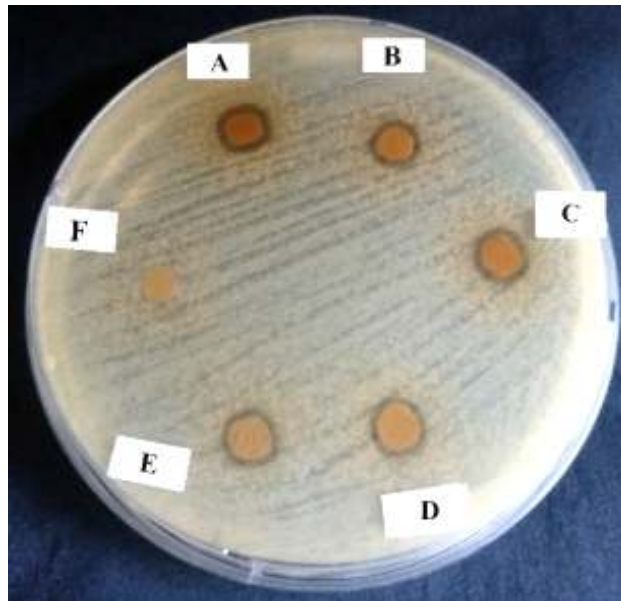
UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang membantu penulis menyelesaikan penelitian ini, terutama kepada Dosen Pembimbing Akademik dan Dosen Pembimbing Skripsi penulis dan teman-teman yang bersedia membantu secara moral atau material.

DAFTAR RUJUKAN

1. Nadia R. Profil Kultur dan Uji Sensitivitas Bakteri Aerob dan Infeksi Luka Operasi Laparatomi di Bangsal Bedah RSUP DR. M Djamil Padan. (Online). 2011. (<http://pasca.unand.ac.id/id/wpcontent/uploads/2011/09/artikel5.pdf>, diakses 29 April 2018).
2. Samiullah & Bano, A., 2011, In Vitro Inhibition Potential of Four Chenopod Halophytes Against Microbial Growth, Pak. J. Bot., 43: 123-127.
3. Wanke CA, Calderwood SB, Bloom A. Approach to the adult with acute diarrhea in developed countries. Belanda: Wolters Kluwer; 2014.
4. Purwanti M, Sudarwanto M, Rahayu WP, Sanjaya AW. Pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Clostridium perfringens* pada makanan tambahan pemulihan yang dikonsumsi balita penderita gizi buruk. Forum Pascasarjana. 2008 Okt; 31(4): 239-250.
5. Yusro. F., Diba. F., Mariani. Y., Mulyadi, dan Astria, 2014, Ragam Tumbuhan Berkhasiat Obat di Kalimantan Barat, F.U Press Universitas Tanjungpura, Pontianak.
6. Zimbro MJ, Power DA, Miller SM, Wilson GE, Johnson JA. Difco & BBL manual of microbiological culture media. United States of America: Becton, Dickinson and Company; 2009.
7. Nuria MC, Faizatun A, Sumantri. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. Mediagro. 2009; 5(2): 26-37.
8. ICMR. Detection of antimicrobial resistance in common gram negative and gram positive bacteria encountered in infections diseases-an update. ICMR Bulletin. 2009.
9. Pelczar MJ, Chan ECS. Dasar-dasar mikrobiologi. Jakarta: Universitas Indonesia Press; 2008.
10. Nababan E, Hasruddin. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. Jurnal Biosains. 2015 Agt; 1(2): 51-56.
11. Malindo, Yohanes. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Pontianak. Universitas Tanjungpura; 2015.

LAMPIRAN GAMBAR



Gambar 1. Hasil KHM Infusa Daun Karas (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) pada bakteri *Bacillus cereus*

Keterangan :

A = 204,8 mg/ml	E = 12,8 mg/ml
B = 102,4 mg/ml	F = 6,4 mg/ml
C = 51,2 mg/ml	D = 25,6 mg/ml

LAMPIRAN TABEL

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Infusa Daun Karas terhadap Bakteri *B. cereus*

Sampel uji (mg/ml)	Diameter zona Hambat Rata-rata \pm SD
Sampel uji (mg/ml)	Diameter Zona Hambat Rata-rata \pm SD
204,8	11,48 \pm 0,20207
102,4	9,76 \pm 0,30551
51,2	8,12 \pm 0,22546
25,6	7,43 \pm 0,15275
12,8	6,53 \pm 0,15275
6,4	0

Keterangan tabel : dilakukan 3 kali replikasi